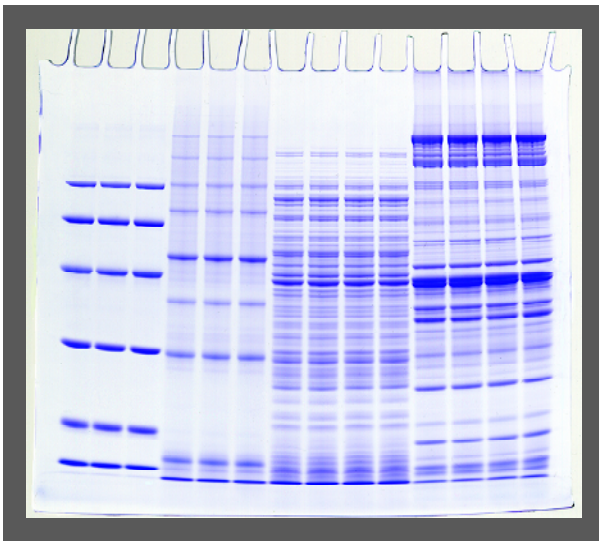
BIOSCIENCE &
BIOTECHNOLOGY

PAGE

(Polyacrylamide gel Electrophoresis)

初めての電気泳動

ータンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動編ー



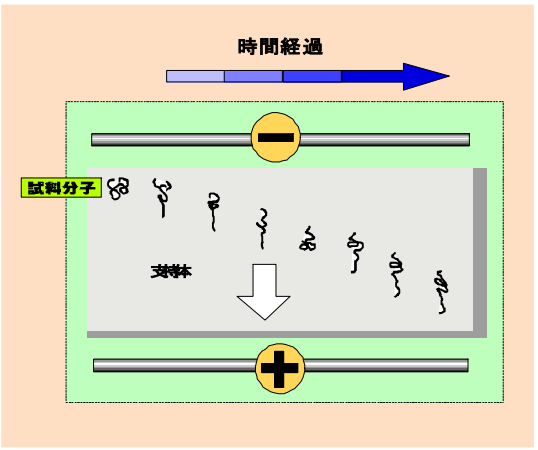
BIOSCIENCE &
BIOTECHNOLOGY

1．電気泳動

原 理

電気泳動とは、溶液中の荷電物質が電場のもとで移動する現象を言います。

ここで言う荷電物質は緩衝液成分を除くペプチド・タンパク質・核酸（ＤＮＡ・ＲＮＡ）など、水溶液中で＋又はーの荷電を持つ物のことで、いわゆる電気泳動の試料です。ただし水溶液中では試料が拡散してしまうため支持体として膜やゲルを用い、これらの中を荷電物質（試料）が移動していく形態をとるのがほとんどです。支持体（膜・ゲル）中の試料は、直流電場下で、その性質（形や荷電状態や分子量等）に応じて自分の電荷と反対の電極へ向かって移動します。その際の移動速度が物質によって異なることで各々が分離されるのです。



支持体であるアガロースゲル又はポリアクリルアミドゲルは網目状立体構造をもち、試料に対し分子ふるいの役割をはたします。小さな物質は速く、大きな物質は遅く移動し、分子量に応じた分離が可能です。この時移動距離と分子量はほぼ反比例するので、電気泳動を用いて分子量の決定も可能です。また分子ふるいをかけずに荷電状態や形状に応じた分離方法もあります。この様な要因をいろいろ組み合わせて試料中の各成分を分離することが出来ます。

電気泳動はこの様な分離原理を利用して分子量決定をはじめ等電点や純度決定、各成分の定量・精製等に利用され、タンパク質や核酸の主たる分離・分析法となっています。

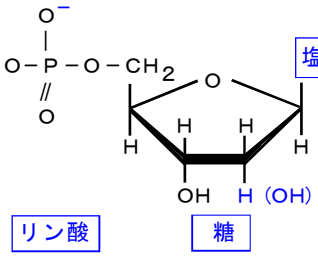
種 類

試　　料：ペプチド，タンパク質，糖タンパク，リポタンパク，ヌクレオチド，核酸（DNA・RNA）
支 持 体：ろ紙，セルロースアセテート膜，ポリアクリルアミドゲル，アガロースゲル，寒天
形態・方法：ディスクゲル電気泳動，スラブゲル電気泳動，サブマリン電気泳動，
等電点電気泳動，二次元電気泳動，キャピラリー電気泳動

★参考：核酸、タンパク質の構造と大きさ

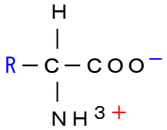
核酸はリン酸残基で常にマイナス（－）の荷電を持ちますが、タンパク質はアミノ酸の種類や環境（周りのｐＨ）によって（＋）にも（－）にもなります。

「遺伝子」核酸（DNA・RNA）ーヌクレオチド



アデニン（A）
グアニン（G）
チミン（T）
シトシン（C）
ウラシル（U）

「酵素」タンパク質ーペプチドーアミノ酸
２０種類の標準アミノ酸



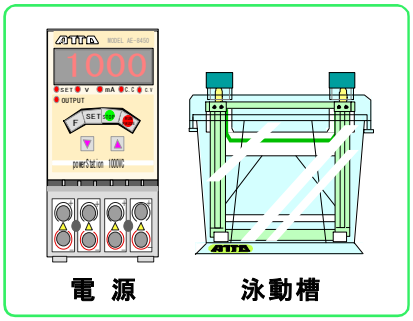
核酸、タンパク質の大きさは約２～１０㎜、10^3～10^9の分子量をもつ

２．電気泳動の操作

以下に一般的な電気泳動の操作を示します。詳細は試料や泳動方法、検出方法によって異なりますが、早い場合て約１．５時間、泳動や検出に時間を要する場合には１日以上かかることもあります。

一般的な電気泳動全般の操作の流れ

①試薬・試料の準備
↓　試料、泳動用緩衝液、ゲル用ストック液等を準備する。
②泳動用ゲルの作製
↓　目的とする試料の分子量によりゲル濃度を決定しゲルを作製する。
③試料前処理
↓　試料を完全に溶解する。比重をつける。
④試料塗布
↓　ゲルを泳動槽に設置し試料を塗布する。
⑤泳動（通電）
↓　泳動槽を電源装置に接続し適当な時間出力する。
⑥染色
↓　染色液中にゲルを浸し試料成分の染色を行なう。
⑦脱色
↓　試料成分と結合しない余分な染色剤を洗い落とす。
⑧検出（可視化）
↓　色素染色、発色の場合には成分が目で見える。
　　又は 蛍光色素染色の場合は紫外線を照射し検出する。
⑨保存
↓　乾燥器でゲルを乾燥させフィルム状にし、保存する 又は写真にとる。
↓　カメラやスキャナーでコンピューターに取込む。
⑩解析
　　データから内容を解析する。



電　源　　泳動槽

他、泳動後ブロッティング（膜への転写）して特異的検出を行なう方法、ゲルから成分（分離された試料）を回収する方法等もある。

３．ポリアクリルアミドゲル電気泳動

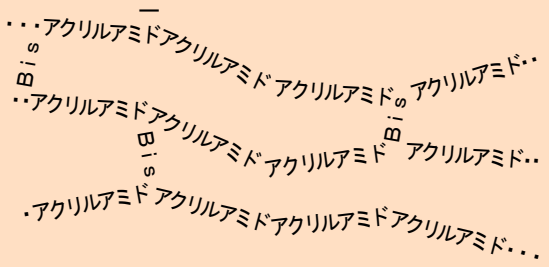
最も一般的な電気泳動はタンパク質や核酸のポリアクリルアミドゲル電気泳動およびアガロースゲル電気泳動です。ポリアクリルアミドゲルとアガロースゲルの違い（使い分け）は網目の孔の大きさ（ポアサイズ）で、主にポリアクリルアミドゲルは小さく低分子量用、アガロースゲルは大きく高分子量用と考えて良いでしょう。例えば核酸（ＤＮＡ）で１～７００bpの大きさにはポリアクリルアミドゲルを使用し、約５００bp以上の大きさにはアガロースゲルを使用するのが定法です。又タンパク質は、数百Daぐらいのペプチドから数十ｋDaのタンパク質（多くのタンパク質はこの範囲に含まれる）であればポリアクリルアミドゲル電気泳動で対応可能です。

以下、ポリアクリルアミドゲルについてご説明しましょう。

ポリアクリルアミドゲル

ポリアクリルアミドゲルはアクリルアミドとN,N'-メチレンビスアクリルアミド（Bis）の重合体です。アクリルアミドだけでは直鎖状につながっていくだけですが、Ｂｉｓを加えるとこれが架橋の役割を果たし網目（三次元）構造を持った重合体（ゲル）となるのです。ちなみにゲル作製（重合）時に一緒に加える過硫酸アンモニムは重合開始剤、ＴＥＭＥＤ（N,N,N',N'-ﾃﾄﾗﾒﾁﾙｴﾁﾚﾝｼﾞｱﾐﾝ）は重合促進剤です。電気泳動支持体としてのポリアクリルアミドゲルは、無色透明、耐薬性（強アルカリ・酸や変性剤の共存可能）、試料の吸着が無い、ポアサイズ（分子ふるい効果）が調整できる、強度がある、高純度・安価な試薬、乾燥・保存出来る等の特長を備えています。ただし重合前のアクリルアミドは神経毒なので取り扱いには注意して下さい。重合体には毒性が無いと言われているので、余った溶液等は固めて破棄することをお勧めします。

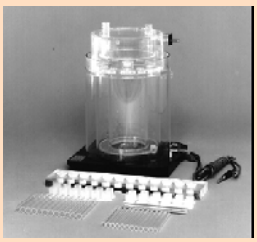
ーポリアクリルアミドゲル模式図



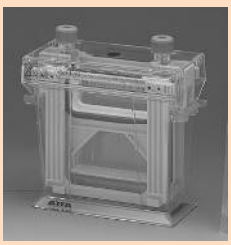
電気泳動の場合、アクリルアミドとＢｉｓの総和をゲル濃度（アクリルアミド濃度）と言い、通常３～２０％の範囲で利用されます。おおよそゲル濃度が高くなれば網目が小さくなるので分子量の小さい試料が対象となります。つまり分離したい試料の分子量に応じて適切なゲル濃度を選択することが大事です。試料の分子量がわからなかったり、広範囲にわたって分離したい時には５～２０％の様なグラディエント（濃度勾配）ゲルの利用法もあります。又、一度作製したゲルは一日以上は置かないで下さい。（濃縮ゲルを作製した場合は放置不可）長時間のアルカリ性条件下でポリアクリルアミドは分解が起こり、生じたアクリル酸のカルボキシル基が泳動に影響を及ぼします。他、酸素（空気）の存在はゲル化を阻害すること、温度が低いとゲル化しにくいこと等は基本的な性質として覚えておいて下さい。
「８．電気泳動のコツ」参照）

種 類

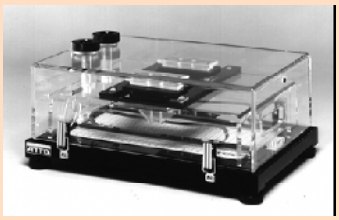
タンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動にも多数種類があります。形から大別するとディスク型、スラブ（垂直）型、水平型等があり電気泳動に応じて使い分けます。方法では分子量サイズで分けるＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）、等電点で分ける等電点電気泳動（ＩＥＦ）、二つの要因（例えば上記の分子量サイズと等電点）で二次元に展開する二次元電気泳動等があります。



ディスク電気泳動装置
「等電点ディスク電気泳動装置」



スラブ型電気泳動装置
「ラピダス・ミニスラブ電気泳動槽」



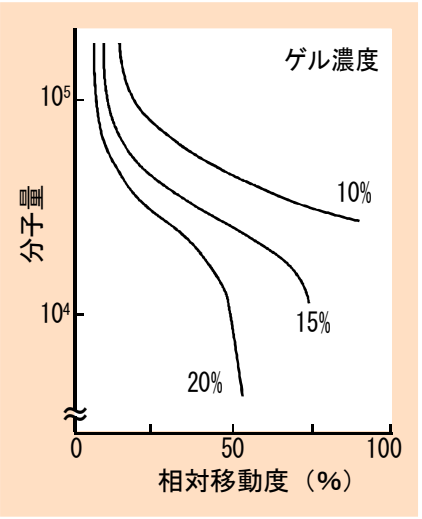
水平型電気泳動装置
「レゾルマックスＩＥＦ」

＊参考書：ポリアクリルアミドゲル電気泳動 高木俊夫編著 廣川書店
原理、実験操作がタンパク質、Ｌａｅｍｍｌｉ法に限らず詳細に説明されています。

4．ＳＤＳ電気泳動（Ｌａｅｍｍｌｉ法）

ＳＤＳ電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）

ＳＤＳはドデシル硫酸ナトリウム（$CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$）の略で陰イオン性界面活性剤の一種です。タンパク質の可溶化剤として利用され、タンパク質の電気泳動ではＳＤＳ－ＰＡＧＥ（ＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動法）という最も一般的な手法に用いられます。ＳＤＳはタンパク質にイオン的に結合する他ミセルを形成する事もあり、その結合量はポリペプチド鎖（タンパク質）１に対して１．２～１．５と言われています。タンパク質は構成アミノ酸により（＋－）どちらにも荷電（１頁参考）しますが、ＳＤＳが結合（ＳＤＳ処理）することでその電荷を打ち消し一過性に（－）荷電を持たせて、全ての分子を陽極側へ移動させることが可能となります。その際、ゲルの網目構造によりほぼ分子量の大きさで各々のタンパク質を分離することができます。泳動（検出）後は、縦軸に分子量を指数関数に、横軸にタンパク質の移動度をとったグラフで分子量既知のタンパク質の移動度を測って検量線を作製し（右図参照）、未知のタンパク質の分子量推定が可能です。このＳＤＳ－ＰＡＧＥにも多くの種類がありますが、現在最も多く利用されているのがＬａｅｍｍｌｉの方法です。Ｌａｅｍｍｌｉ法は、実際に分離を行なうゲルの上に濃縮ゲルを作製し、塩化物イオン（Ｃｌ⁻）とグリシネートイオンを利用して試料を濃縮する為バンドがシャープになるのが特徴です。ゲル中はトリス-塩酸（Ｔｒｉｓ-ＨＣｌ）、泳動用緩衝液はトリス-グリシン（Ｔｒｉｓ-Ｇｌｙ.）を用いＳＤＳ存在下で泳動を行ないます。（下図参照）



試　料

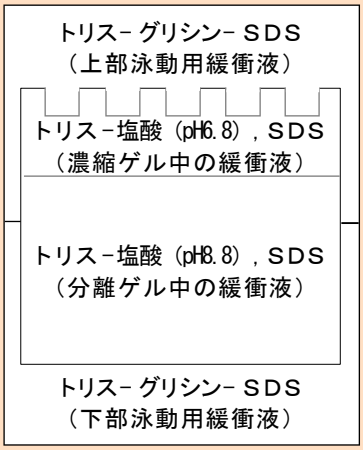
電気泳動の大前提として試料は溶解していなければなりません。タンパク質ではＳＤＳが可溶化剤として働くのでまずＳＤＳ処理を行ない、沈殿物があるようなら遠心をして取り除きます。ＳＤＳ処理はＳＤＳ溶液（試料処理液）と混合した後加熱２～３分が一般的ですが、熱を加えず室温で一晩放置する方法等もあります。試料によって検討してみて下さい。試料の保存方法はＳＤＳ処理の前後に関わらず一般的に冷凍下で保存しますが、再融解の繰返しはお勧め出来ません。

5．緩衝液と通電条件

緩衝液

試料や泳動方法によって使用される緩衝液は様々です。（等電点電気泳動では緩衝液は使いません。）タンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動ではリン酸緩衝液系やトリス緩衝液系が多く用いられます。ＳＤＳ－ＰＡＧＥのＷｅｂｅｒ-Ｏｓｂｏｒｎ法はリン酸緩衝液、Ｌａｅｍｍｌｉ法ではトリス緩衝液系で、いずれもアルカリ性条件下です。Ｌａｅｍｍｌｉ法の特徴として、ゲル中はトリス－塩酸（Ｔｒｉｓ-ＨＣｌ）、泳動用緩衝液はトリス－グリシン（Ｔｒｉｓ-Ｇｌｙ.）の緩衝液が用いられ、塩化物イオン(Ｃｌ⁻)とグリシネートイオンの移動度の差を利用して試料を濃縮し、結果としてシャープなバンドを得ることができます。従って、泳動用緩衝液にｐＨを合わせようと塩酸

Ｌａｅｍｍｌｉ法の溶液系



（Ｃｌ⁻）を加えたり、一度使用した泳動用緩衝液を再度使用したりするとイオン系がおかしくなり泳動パターン（結果）に影響を及ぼす事があるので、この様な事はしないで下さい。また、調製や希釈の際に濃度を間違えたりすると泳動パターンが乱れたり、泳動時間が非常に長くなることがあります。念の為通電時の電流値、電圧値、泳動時間等はメモしておくとよいでしょう。

通電条件

試料（物質）が電場を移動していくのが電気泳動の原理ですが、通常この電場は直流電場のことを言います。電気泳動専用の電源がその制御・供給を行なう装置になります。泳動方法に応じて必要な電気容量は異なりますが、タンパク質のＰＡＧＥ（スラブ型）の泳動では電流１００ｍＡ、電圧５００Ｖもあれば充分でしょう。設定（通電条件）に関して「定電流、定電圧の設定はどのように決めるの？」と質問される事が多いのですが、電気泳動の通電条件はほとんどが慣習的と言っても過言ではありません。定電圧設定が良く使われる例としてはサブマリン型のアガロース電気泳動があります。これはサブマリン型は通電（断）面積（ゲル厚や緩衝液量）の一定化が難しい為、定電流設定では再現性が無くなるからだと思われます。また、シークエンスや等電点では定電力設定を用いると良いでしょう。泳動開始直後は電流が流れ易い状態で発熱等も大きくなるので、定電力にしておけば電流が高いうちは電圧が押さえられ、電流が下がってくると電圧が高くなり自動調節のようになるのです。ＳＤＳ－ＰＡＧＥは定電流設定が用いられています。 一般的に泳動は（拡散しない程度に）ゆっくりの方がパターンはきれいだと言われています。しかし、効率（時間）の点からパターンがひどくならない程度に出力を上げ早く終らせるようにしています。いずれにせよ常にジュール熱（通電時に発生する熱）による影響は考慮しなければなりません。熱により試料が拡散したり、分解・不活性化等の影響が出る場合は、通電条件を変更したりゲルの恒温（冷却）化等の対処が必要です。電源・泳動槽一体型の装置「コンパクトＰＡＧＥ（・ツイン）」や「パジェラン」は以上の様な条件を考慮したうえで一定電流出力設定になっています。

さて、通電条件に関しては「電流は通電面積に比例し電圧は電極間距離（ゲル長）に比例する」という原則を覚えておくと便利でしょう。例えば、２連の泳動槽でゲル１枚あたり２０ｍＡで泳動していて次に同条件で２枚泳動するのであれば４０ｍＡに設定します。１ｍｍのゲル厚で２０ｍＡで泳動していて次に同条件で２ｍｍ厚のゲルを泳動したいのであれば４０ｍＡに設定する、という事です。また１台の電源に泳動槽を２台（電源端子から各々１台）つなぐ時は、電源内部は並列であることが解っていれば、定電流設定なら電流値を２倍に、定電圧設定なら電圧値はそのままで良いわけです。電圧に関しては、泳動距離が長い場合（大きな泳動装置）や温度が低い場合等は、抵抗が大きいので高電圧を必要とする場合が多くなります。他、定電流をＣ．Ｃ（Constant Current）、定電圧をＣ．Ｖ（Constant Voltage）と現す事も多いので覚えておいて下さい。

６．検出

検出方法

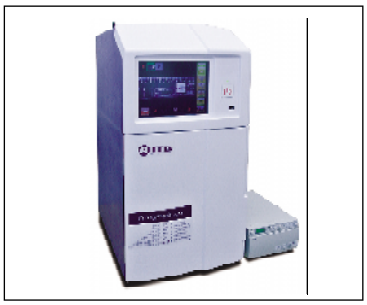
一般的に試料（タンパク質）は目に見えないものですので電気泳動後は速やかにその検出を行ないます。タンパク質ではまず色素染色が定法で、その中でもＣＢＢ（クマシーブリリアントブルー）色素による染色が代表的です。色素染色はその溶液中に泳動後のゲルを浸けておくだけで良いので、簡単で安価な方法です。ＣＢＢは感度も数百ｎｇと高く直線性もあります。ＣＢＢにはＧ－２５０とＲ－２５０があり若干色味が異なりますがどちらでもかまいません。他、色素染色にはアミドブラック１０Ｂという、感度は劣りますが糖タンパク質の検出には有効なものもあります。いずれも酢酸・メタノール中で染色・脱色を行ないタンパク質の固定も兼ねています。 最近では蛍光色素も用いられますが、紫外線照射装置等の検出装置が必要となります。ネガティブ法とはバックグランド（ゲル）が白濁しタンパク質（バンド）が透明

検出法	反 応	具 体 例	操作性	感度
色素染色	有色色素のタンパク質結合	ＣＢＢ（クマシーブリリアントブルー）	◎	○
		アミドブラック１０Ｂ	◎	△
	蛍光色素のタンパク質結合	サイプロオレンジ ™	○	◎
ｲｵﾞﾃｨﾌﾞ法*	ＳＤＳと陽イオンの白濁*	Ｚｕ、Ｋ、Ｃａ等 *ﾊﾞｯｸｸﾞﾗﾝﾄﾞが白濁	○	○
銀染色	銀の沈着	銀染色（シルバーステイン）	△	◎
標識法	タンパク質標識物の検出	ＲＩ、蛍光色素	×～○	◎～◎

なまま残るので、この様に呼ばれます。弊社では「リバース染色試薬」がこれに相当します。ＣＢＢより感度が高く、検出までの時間が早いという特徴もあります。更に高感度な検出法として銀染色（シルバーステイン）が良く用いられます。ＣＢＢの約１００倍程度の感度で数ｎｇの検出が可能です。染色法に比較すると操作過程が多かったり再現性が若干低い等問題もありますが、市販の物は工夫がなされ大分使い易くなっています。弊社では「シルバーステインキット」として販売しています。標識法は最も高感度の検出法ですが、ＲＩ（放射線同位元素）や蛍光物質を試料に取込ませる又は結合させる前処理や専用の検出装置が必要となります。

解析・保存

得られた泳動パターンから目的に応じて解析します。例えばあるバンド（タンパク質）の分子量を測定する場合は、分子量既知のタンパク質（分子量マーカー）の移動度を測って検量線を作製し（４．ＳＤＳ電気泳動図参照）、これを利用して分子量を推定します。また試料の比較を行なう場合には、バンドの有無や濃さを見ます。データの保存方法としては、ゲル（泳動パターン）を写真撮影したり、ゲルその物を乾燥して保存する方法等があります。最近ではＣＣＤカメラで撮影およびコンピュータに撮り込んで専用ソフトウェアで解析する方法が広まっています。この様な機器（弊社「プリントグラフ」「CSアナライザー」）を利用すると解析（分子量測定、パターン比較、定量等）、データ（泳動パターン、解析結果）の保存、プリントアウトが簡単に行なえ、ゲルを取っておく必要もないので便利です。



「プリントグラフ2M」

７．電気泳動実践編

以下、代表的なタンパク質の泳動であるＬａｅｍｍｌｉ法（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）を例に、実際に電気泳動を行なう時の注意点等を紹介しましょう。

＊詳細は取扱説明書をご覧下さい

必要な機器・試薬

トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Ｔｒｉｓ）、グリシン、ＳＤＳ（ﾄﾞﾃﾞｼﾙ硫酸ﾅﾄﾘｳﾑ）、塩酸、アクリルアミド、N,N'-メチレンビスアクリルアミド（Ｂｉｓ）、過硫酸アンモニウム、ＴＥＭＥＤ、グリセリン、2-メルカプトエタノール、酢酸、メタノール、ＣＢＢ（ｸﾏｼﾞｰﾌﾞﾘﾘｱﾝﾄﾌﾞﾙｰ）G-250又はR-250、分子量マーカー、ＢＰＢ（ﾌﾞﾛﾑﾌｪﾉｰﾙﾌﾞﾙｰ）

＊既製ゲル（「ｅ－ＰＡＧＥＬ」パジェルシリーズ）を使用する場合はアクリルアミド、ビスアクリルアミド、　過硫酸アンモニウム、ＴＥＭＥＤは不要。

＊電気泳動用又は特級グレードが望ましい。酢酸、メタノールは１級でも良い。

＊分子量マーカーは試料の分子量を目安に決める。不明な場合は約10000～90000又は200000の範囲のものならほぼカバーできる。

電気泳動装置（槽）ATTO「ラピダス・ミニスラブ」、電気泳動用電源ATTO「パワーステーションⅢ」、又は電源泳動槽一体型装置ATTO「コンパクトＰＡＧＥ(･ツイン-R)」、マイクロピペット（1～20μL、20～100μL)、マイクロピペットチップ、ホールピペット、ビーカー、メスシリンダー、遠心チューブ（1.5ml）又は試験管、電熱器（湯煎用)、天秤、スターラー（攪拌器)、保存用びん、トレイ（ゲル染色用)、ろ紙、ロート

試薬の調製

＊既製ゲル **ATTO e-PAGEL** を使用する場合は①～④液は不要。
＊ **ATTO *EzStainAQur***(染色液)を使用する場合は⑦⑧液は不要。
＊**ATTO *EzApply***(前処理液)を使用する場合は⑥⑨液は不要。

①Ａ溶液（30% アクリルアミド保存液）　冷暗所保存
アクリルアミド　29.2g
N,N'－メチレンビスアクリルアミド　0.8g
純水に溶解し100mLとします。

②Ｂ溶液（1.5M　Tris-HCl緩衝液、0.4%SDS）　冷暗所保存
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）　18.2g
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）　0.4g
以上を純水に加え、塩酸(HCl)でpH 8.8に調製し、100mLとします。

③Ｃ溶液（0.5M　Tris-HCl緩衝液、0.4%SDS）　冷暗所保存
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）　6.1g
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）　0.4g
以上を純水に加え、塩酸(HCl)でpH 6.8に調製し、100mLとします。

④Ｄ溶液（10%過硫酸アンモニウム）　使用時調製
過硫酸アンモニウム　100mg
純水1mLに溶解します。

⑤泳動槽（上部、下部槽）用緩衝液　冷暗所保存
トリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）　1.5g(25mM)
ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）　0.5g(0.1%)
グリシン　7.2g(192mM)
純水で500mLとします（ミニスラブ泳動１回分、コンパクトＰＡＧＥ泳動５回分に相当)。HClでのpH調整は行いません。

⑥マーカー色素（ＢＰＢ）溶液　冷暗所保存
ブロムフェノールブルー（ＢＰＢ）　1mg
グリセリン　0.1mL
純水　0.9mL

⑦クマジーブリリアントブルー（ＣＢＢ）染色液　密閉保存
クマジーブリリアントブルー（ＣＢＢ）　1g
メタノール　300mL
酢酸　100mL
純水　600mL
ろ紙でろ過をしてから使用します。

⑧クマジーブリリアントブルー（ＣＢＢ）脱色液　密閉保存
メタノール　300mL
酢酸　100mL
純水　600mL

⑨試料処理液　　冷暗所保存

ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）	0.1g(1%)
2-メルカプトエタノール（又はDTT）	0.1mL(1%)
C溶液（0.5M　Tris-HCl緩衝液　pH6.8）	1mL(50mM)
グリセリン	2mL(20%)

純水で10mLとします。

＊各溶液、特に①②③液調製時には激しい攪拌を行なわない事。アクリルアミドは酸素（空気）が重合阻害になるため、泡立てたりするとゲル調製時に固まりにくくなる。

＊酢酸、メタノールはタンパク質（試料）の固定作用がある。

＊⑨試料処理液は試料が固体(結晶等)だったり溶液でもタンパク質濃度が高い場合に有効。アプライ時試料溶液のタンパク質終濃度はＣＢＢ染色の場合１～２mg/mLが目安。試料のタンパク質濃度が低い場合には⑨混ぜずに各溶液を上記の終濃度になるように各々加えていく。

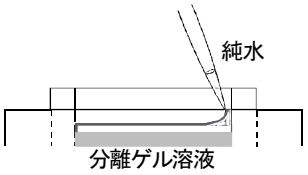
操 作

１．電気泳動 （タンパク質の分離）

ゲルを作製（既製ゲル使用の場合は不要）

ガラスプレートを組み立てる

分離ゲル溶液を調製・注入



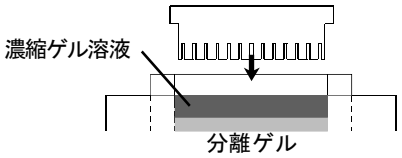
純水を重層し、ゲル化（３０～６０分）

濃縮ゲル溶液を調製

純水を捨て濃縮ゲル溶液少量注入し洗浄

濃縮ゲル溶液を注入

サンプルコウムを挿入、ゲル化（２０～３０分）



↓

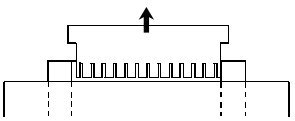
試料（ex. 血清、細胞抽出物）を用意

↓

ＳＤＳ処理（タンパク質の可溶化・マイナス荷電、比重）

ＳＤＳ溶液と混合（全量約１００～５００μL）

煮沸又は室温



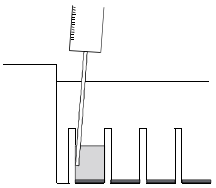
↓

泳動槽・緩衝液等準備、 ゲルを泳動槽にセット

下部緩衝液を入れ、サンプルコウムを抜き洗浄したゲルをセットし上部緩衝液を入れる

↓

泳動用ゲルに試料を塗布する（約3～１５μL＊）



なるべく試料溝底部に近いところまで

チップやシリンジの先端を入れ静かに塗布する

↓

通電開始

一定電流（Ｃ．Ｃ）２０ｍＡ／ゲル１枚＊

（約７０～９０分間＊）

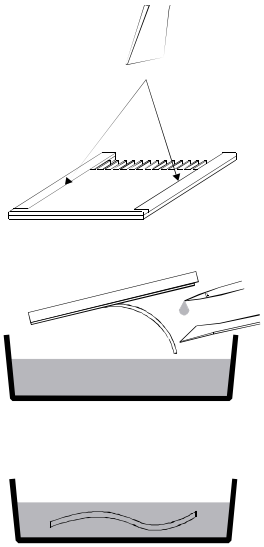
＊ 上記は「ミニスラブ」の場合

「コンパクトＰＡＧＥ（･ツイン)」の場合は、試料は最大８μL

一定電流出力（３０分間または６０分間）

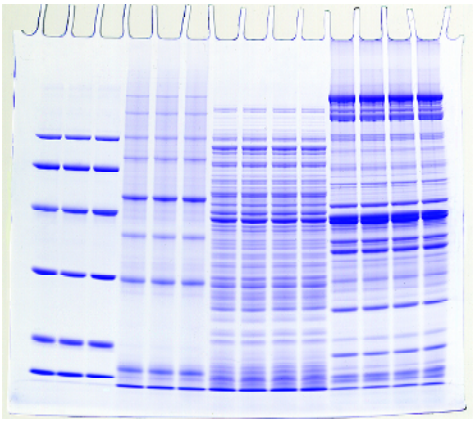
2．検出（染脱色）・保存

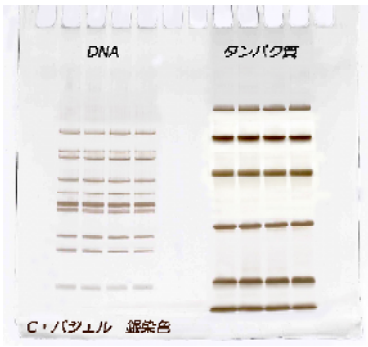
泳動終了
↓
ゲルをガラスプレートから出す
　ゲルが着いているところを濡れたヘラで切り込みを入れ
　ガラスプレートを逆さまにしてゲルの端を剥がす
↓
ゲル（タンパク質）を染色　　ゆっくり振とう
　通常 40 ～ 60 分が目安
↓
脱色（余分な色素を洗い流す）　ゆっくり振とう、数回液交換
　ゲル（バックグランド）が透明に近くなるまで
↓
泳動パターンの撮影（データ保存）
↓
（必要であればゲルを乾燥・保存）



実際に泳動・検出を行ったゲル

泳 動 装 置：AE-6530 ラピダス・ミニスラブ
ゲ　　ル：E-T12.5L ｅ･パジェル
　　（ゲル濃度：１2.5%、ゲル厚：１mm 厚）
泳動用緩衝液：AE-1410 ***EzRun***
　　（トリス－グリシン－ＳＤＳ）
通　　電：定電流２０mA、７０min
試　　料：AE-1440 ***EzStandard***（分子量マーカー）、
　　ラット骨格筋、大腸菌
染 色 ・ 検 出：AE-1340 ***EzStain AQua***
　　（クマシーブリリアントブルー（CBB）





泳 動 装 置：AE-7305 型 コンパクトＰＡＧＥ
ゲ　　ル：Ｃ･パジェル　Ｃ12.5Ｌ
　　（ゲル濃度：12.5%、ゲル厚：0.75mm 厚）
泳動用緩衝液：トリス－グリシン
通　　電：PAGEL-High（３０min）モード
試　　料：タンパク質・DNA とも分子量マーカー
染 色 ・ 検 出：AE-1360 ***EzStain Silver***（銀染色）

８．電気泳動のコツ

泳動がうまくいかない時等の対処法です。きれいな泳動結果を得る為のコツでもありますので是非ご参考に！

ゲルがうまくできない

泳動が上手くゆく、きれいなデータを得る、１番のコツは何と言ってもきれいなゲルを作製することです。重合ムラを作らない様に以下の様な事柄に注意してみて下さい。まずガラスプレートやコウムはきれいな物を使用する事、汚れているとゲル化し難くいのです。次にゲル溶液は丁寧・充分に混ぜる事。当然均一溶液でなければ均一なゲルは出来ません。かと言って長時間又は激しく攪拌すると空気中の酸素を溶解する事になり（酸素はゲル化を阻害する）ゲル化し難い状態を招いてしまいます。手法によっては溶液類を脱気することがありますが、（等電点電気泳動のゲルを除いて）当社の処方ではその必要はありません。シリコン（ガスケット）に接触している部分もゲル化しにくいので、ゲル作製時に底に溶液が残っていても心配しないで下さい。また冷蔵庫から取り出した試薬（溶液）を即使用、注入すると温度ムラによるゲル化の不均一を生じる事があります。これはゲル化が温度により影響を受ける為（温かい方がゲル化し易い）です。冷暖房の風があたる所等も避けた方が良いでしょう。他、一般的にゲル濃度は低い方がゲル化し難く、高いほど固まり易いです。従って３～７％ぐらいの低濃度ゲルを作製する場合は上記の事項に気をつけたうえで過硫酸アンモニウム、ＴＥＭＥＤの量を１０％程度増やしても結構です。濃縮ゲルでコウム（溝と溝の間）のゲルが出来ないことがありますが、この方法で対処してみて下さい。また逆に高濃度ゲルを作製した場合ゲルがガラスプレートから剥離する（気泡が入る）ことがありますが、これは逆に過硫酸アンモニウム、ＴＥＭＥＤの量を１０％程度減らしてみて下さい。（ゲルについては「３．ポリアクリルアミドゲル電気泳動」も参照下さい）

バンドがシャープにならない、形が変

原因は緩衝液か試料にあることがほとんどです。緩衝液の試薬や組成、濃度をもう一度確認してみて下さい。Ｌａｅｍｍｌｉ法では泳動用緩衝液のｐＨ調整は必要ありません。かえってイオン系がおかしくなり泳動パターン（結果）に影響を及ぼしてしまいます。もともと濃縮作用の無い泳動方法ではバンドがシャープになり難いこともあるので文献等のデータと比較してみて下さい。試料に原因のある場合は試料溶液中の塩濃度や試料の分解等が考えられます。塩濃度が高いと泳動パターンが曲がることがあります。隣の試料同士も影響するので塩濃度や量（塗布のボリュームおよびタンパク質量）もなるべく揃えた方が良いでしょう。また試料の分解が起こるとバンドがスメア（ブロード状）になります。試料が古くなっていないか保存方法は大丈夫か確認してみて下さい。分解され易い試料は抽出から泳動までなるべく短時間で、操作中は氷中に置くなどして対処して下さい。また、低分子量（数千）の試料や糖タンパク、リポタンパク等はバンドがシャープになり難い傾向にあります。比重もしっかりつけて、丁寧なアプライを心がけましょう。他、試料溝がきれいに出来ていないとそのままの形で泳動されてしまうこともあります。未重合のアクリルアミドやゲル片が無いように試料溝の洗浄も忘れないで下さい。

余計なバンドが出る

試料をのせていないレーンやゲル全体にもバンドが見えてしまう、という現象は特に銀染色で発生する場合が多いようです。これは銀染色が高感度でかつ特異性が低い（タンパク質でなくても発色する）為に起こります。ほとんどの場合、水や試薬の汚れが原因です。純度の高いものを使用し溶液等を調製し直して下さい。ストック溶液から調製している場合は、念のためストック溶液を調製し直してみて下さい。他、試料処理溶液中の２－メルカプトエタノールが原因になることもあります。他の還元剤（ＤＴＴなど）に変更する等して対処して下さい。

９．装置・システム紹介

＊各装置とも仕様等の詳細はカタログをご請求下さい。試薬「ＡＴＴＯ　*Ez*シリーズ」も新発売！

初めての電気泳動にもおすすめ！ 小さい、早い、省スペース、省コスト！タンパク質・核酸いずれにも対応。既製ゲル（ｃ・パジェル）を利用して泳動～検出が２時間以内で終ります。試料処理溶液から染色液まで試薬もそろえました。

■コンパクトスラブ・スターターセット　¥336,400 ～

電気泳動装置（電源・泳動槽）と既製ゲル

AE-7350　コンパクトPAGE

c･パジェル

WSE-1020 コンパクトPAGE･ツイン-R

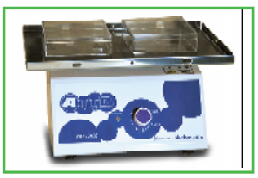
※コンパクトPAGE･ツインはゲル2枚用です。いずれかを選択ください。

電気泳動用試薬類と振とう器

ATTO *Ez*シリーズ（試薬類）

AE-1340　*EzStain AQua*

AE-1360　*EzStain Silver*



シーソーシェーカーatto

～コンパクトPAGE　タンパク質電気泳動システム例～

コードNo.	名　　称		数量	価格
2322260	AE-7350　コンパクトPAGE		1式	¥68,000
2321826	WSE-1020 コンパクトPAGE･ツイン-R	または	1式	¥86,000
	C-**L　　c･パジェル®（既製ゲル10枚）		1式	¥17000/¥19000
2332346	WSE-7020　*EzProteinLadder*（SDS-PAGE用有色マーカー）		1個	¥20,000
2332330	AE-1430　*EzApply*（SDS-PAGE用試料処理溶液）		1セット	¥6,800
2332310	AE-1410　*EzRun*（SDS-PAGE用泳動用バッファー）		1袋	¥4,800
2312200	WSC-2400 シーソーシェーカーatto		1台	¥98,000
2332360	AE-1360　*EzStain Silver*（銀染色キット）		1セット	¥16,000
2332370	AE-1340　*EzStain AQua*（クマシー染色試薬溶液）		1個	¥9,800

※ c･パジェルは各種（濃度）ございます。 種類についてはお問い合わせください。グラディエントゲル付は￥2,000 高です。
その他、消耗品（試薬類）などが別途必要になります。 試薬「*Ez*シリーズ」カタログ、「7. 電気泳動実践編」参照。

※DNAの泳動のみ行なう（タンパク質の泳動を行なわない） 場合には、AE-1430 EzApply、WSE-7020　EzProteinLadder、AE-1340 EzStainAQua　は必要ありません。
DNA 用の泳動バッファー、マーカー、染色試薬もご用意しています。弊社までお問合せください。

2015/5/1

ATTO
アトー株式会社
生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器
開発/生産/販売/サービス

主要製品
●ペリスタポンプ
●クロマトグラフ
●電気泳動分析機器
●DNA分析機器
●画像分析システム
●発光分析装置
●バイオ研究機器
●医療分析装置

■本　社　〒111-0041東京都台東区元浅草3-2-2　☎(03)5827-4881(代表) FAX(03)5827-6647
◆技術サービス　☎(03)5827-4873(代表) FAX(03)5827-4874
■技術開発センター　〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6　☎(03)5818-7560(代表) FAX(03)5818-7563
（東京都許可 医療機器製造業）
■大阪支店　〒530-0044大阪市北区東天満2-8-1 岩杉センタービル別館 5F　☎(06)6136-1421(代表) FAX(06)6356-3625

■URL http://www.atto.co.jp/